doi:10.13866/j.azr.2018.04.27

伊犁退化野果林表土层土壤可培养真菌多样性①

陈洁作[1,2]， 吴 楠[1]， 张丙昌[1]， 荣晓莹[1]， 胡文革[3]， 张元明[1]

（1. 中国科学院新疆生态与地理研究所 干旱区生物地理与生物资源重点实验室，新疆 乌鲁木齐 830011；
2. 中国科学院微生物研究所 真菌学国家重点实验室，北京 100101；
3. 石河子大学生命科学学院，新疆 石河子 832000）

摘 要：为认识伊犁退化野果林下表层土壤中可培养真菌的多样性，采用稀释平板法从野果林健康果树覆盖区表层土壤（$H_土$）和患病果树覆盖区表层土壤（$D_土$）中分离不同种类的土壤可培养真菌，基于可培养真菌 ITS 基因序列与 NCBI 数据库 GenBank 中的序列进行比对，选择相似性最高的参考菌株序列，并构建系统发育树。结果从退化野果林表层土壤中分离获得 25 株真菌菌株，隶属 3 亚门 6 纲 8 目 11 科 11 属。从 $H_土$ 分离的土壤真菌优势属为青霉属（*Penicillium*），$D_土$ 的土壤优势属为青霉属（*Penicillium*）和镰刀菌属（*Fusarium*）；聚孢霉属（*Clonostachys*）和拟青霉属（*Purpureocillium*）仅存于 $H_土$，茎点霉属（*Phoma*）和小球腔菌属（*Leptosphaeria*）仅存在于 $D_土$。$H_土$ 可培养真菌 Shannon-Wiener 多样性指数（2.10）大于 $D_土$（1.98），$H_土$ 均匀度指数（0.91）亦高于 $D_土$（0.79）。由此可见，充分认识野果林真菌类群的分布有助于指导果林病虫害防治工作。

关键词：伊犁；退化野果林；表层土壤；可培养真菌；多样性

新疆天山野果林是世界栽培落叶果树的起源地之一，是欧亚较为罕见的、面积最大的、最原始密集的野果林，也是我国生物多样性最为特殊的地区之一[1]，拥有多种野生果树和农用植物的遗传基因多样性，对农业可持续发展具有重要意义[2]。天山野果林多分布于新疆西部海拔为 1 000～1 700 m 的坡地，坡度陡、土层薄、生境差异较大且相对脆弱，因此，对外界干扰响应敏感。从 20 世纪 50 年代末期开始由于人类对天山野果林大规模开发，落后的农业生产方式与生态保护不相适应，引起天山野果林的生态系统严重受损，果树病害严重，物种多样性降低。据记载，1959 年伊犁地区的野苹果林为 8 786 ha，而 2005 年的调查结果显示，该地区的野苹果林减少到 1 800 hm^2，分布面积锐减了 80%[3]。由此可见，野果林的保育工作刻不容缓。

与其他类型土壤相比，森林土壤富含有机质和丰富的微生物类群，森林树冠层、凋落物及根系活动等均会影响土壤光照、含水量、土壤温度及理化特性的变化[4]，进而对土壤微生物的群落结构和生长代谢产生影响。土壤微生物能够改善土壤结构，降解土壤中的纤维素、淀粉和木质素，促进腐殖质形成和营养循环，增加植物抗性及对养分的吸收，减少病原危害[5]，起到生态调控作用，是森林生态系统的能量流动与物质循环的主要动力[6]，也是退化生态系统中生产力恢复的主要因素。而森林土壤真菌组成了土壤生物量的很大部分，能对外来干扰作出一定响应，其种类组成和数量是评价生态系统健康与否的重要指标[7]。Stursova 等[8]的研究表明，在昆虫入侵森林生态系统后，显著影响了森林土壤真菌群体的结构及活性；Gregory 等[9]研究发现，林木死亡后造成土壤结构的改变，会进一步影响到土壤真菌的丰度和组成。

目前，有关退化野果林生态系统以及新疆野苹果种质资源保护的研究越来越多[10-12]，而有关野生果林生态系统地下微生物组成的研究报道甚少。本文在新疆野苹果植株大规模死亡的伊犁州新源县分布区采样，分离鉴定健康果树及患病果树覆盖区表层土壤中土壤可培养真菌类群，了解健康林与患病林表土层真菌分布的差异性，旨在为退化野果林微生物资源调查及保护提供基础数据，为进一步研究

① 收稿日期：2017-11-13； 修订日期：2017-1-12
基金项目：科技部国家重点研发计划（2016YFC0501502）野果林生态系统退化过程及其成因辨析；中国科学院特色研究所主要服务项目 2 课题 3（TSS-2015-014-FW-4-2）
作者简介：陈洁作（1995- ），女，硕士学位，从事植物-微生物互作研究. E-mail：18299083607@163.com
通讯作者：张元明. E-mail：zhangym@ms.xjb.ac.cn

野果林生态系统真菌的生态功能及多样性提供理论依据。

1 研究区域概况

野果林目前仅残存于中亚和我国西部山地，在我国分布于新疆伊犁地区和塔城地区。伊犁天山野果林位于新疆伊犁州境内，分布区东起中国新疆伊犁河谷(80°44′～83°48′E)，向西经霍城、察布查尔与昭苏3县，跨国至哈萨克斯坦的阿拉木图州(76°20′～77°38′E)及塔尔迪库尔干州(79°00′～81°18′E)[1]。天山野果林地处天山伊犁河谷地区最为温暖和具有"地中海"气候特色的低山带(海拔1 000～1 600 m)，年降水量在600 mm以上，4～6月降水较多，且随着海拔高度的增加降水量也会显著增加，在该地区野果林分布下限(海拔1 000 m)的地段年降水量580～660 mm，到分布上限(海拔1 776 m)处年降水量高达1 000 mm，多年均值为869.6 mm[13]。伊犁河谷地区有独特的冬季逆温，最大逆温层厚度约1 000 m，最高达1 705～2 300 m，最大强度为每100 m上升0.4 ℃，冬季积雪厚度一般在40～60 cm，冬季最低气温随海拔的增高而增加，平均海拔每上升100 m，气温递增2～3 ℃[3]。这种独特的生态环境为天山野果林提供了适宜的生存环境，使之成为珍贵的生物多样性天然资源库和基因库。

2 研究方法

2.1 样品采集

2016年7月，在伊犁州新源县100 m^2 的野果林样地中，随机选择5株健康苹果树和5株患病苹果树，采集苹果树冠下表土层0～10 cm土壤样品，为减少空间异质性，沿树干基部做半径分别为0、0.5 m、1.0 m的3个同心圆，每一个同心圆上随机采集3个土样混合作为1个样品。共60份土样用密封袋密封后混匀，尽快带回实验室置于4 ℃冰箱备用。

2.2 真菌的分离

称取待测土样10 g，放入装有小玻璃珠且有90 mL无菌水的250 mL三角瓶中，150 r·min^{-1}震荡30 min充分混匀土壤，静置20～30 s，并依次稀释成浓度为10^{-2}、10^{-3}、10^{-4}土壤悬液，每个稀释度取0.2 mL涂布于孟加拉红培养基，每个处理3次重复，置于28 ℃下培养3～5 d，将分离获得的单菌落转接至马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)平板进行纯化培养，纯化出的菌株转移至PDA斜面4 ℃保藏。

2.3 DNA提取和ITS基因扩增

将保存菌株于PDA平板上活化后，培养5～7 d，用灭菌的接菌针挑取菌丝放入1.5 mL无菌研钵中，用液氮研磨成粉末状，用Ezup柱式真菌基因组DNA抽提试剂盒(上海生工生物工程有限公司)提取DNA。采用真菌通用引物ITS1(5'－TCC GTA GGT GAA CCT GCG G－3')和ITS4(5'－TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC－3')扩增ITS片段，引物交由上海生工生物工程有限公司合成。PCR扩增反应体系为25.0 μL，2×Taq PCR MasterMix(含PCR buffer，$MgCl_2$，KCl，dNTP，DNA聚合酶等)12.5 μL，上、下游引物(10 μmol·L^{-1})各0.5 μL，模板1.0 μL，去离子水补足体积。反应条件为：94 ℃预变性4 min，94 ℃变性45 s，55 ℃退火30 s，72 ℃延伸1 min，35个循环，72 ℃延长10 min。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳确认后，送上海生工生物工程有限公司测序。获得的菌株序列在GenBank进行BLAST同源性比对，将菌株序列与BLAST比对结果相似率较高的参考菌株序列用Clustalx(1.83)进行序列多重比对(multi－plealignment)，截取整齐的同源序列矩阵，用MEGA5.1软件包Neighbor－Joining(Kimura2－parameter模型)构建系统发育树[14－15]。

2.4 多样性分析

采用Shannon－Wiener多样性指数(H)和均匀度指数(E)计算可培养真菌多样性[16]。公式分别为：

$$H = \sum_{i=1}^{S} p_i \ln p_i \tag{1}$$

$$E = H/\ln/S \tag{2}$$

式中：S为分类单元；p_i为第i种的多度比例，可通过$p_i = n_i/N$(n_i为第i种的菌株数，N为所分离的菌株数总和)求出。

3 结 果

3.1 可培养真菌的物种组成

将所获得的序列提交至NCBI进行注册(表1)，25株分离菌株的ITS序列长度为512～718 bp。除菌株WF30(KY404957)外只确定到星核衣科，其他24株真菌分属于11属，包括青霉属(*Penicillium*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、曲霉属(*Aspergillus*)、犁

头霉属(*Absidia*)、丛赤壳属(*Nectria*)、木霉属(*Trichoderma*)、绿僵菌属(*Metarhizium*)、聚孢霉属(*Clonostachys*)、拟青霉属(*Purpureocillium*)、茎点霉属(*Phoma*)、小球腔菌属(*Leptosphaeria*)。25 株真菌的 ITS 序列与 GenBank 中相似菌株序列聚类的自展支持率在 50% ~100%(图 1),由系统进化发育分析可以看出,分离到的 25 株野苹果林下表层土壤可培养真菌主要隶属于子囊菌亚门,半知菌亚门有 8 株,接合菌亚门仅 1 株。

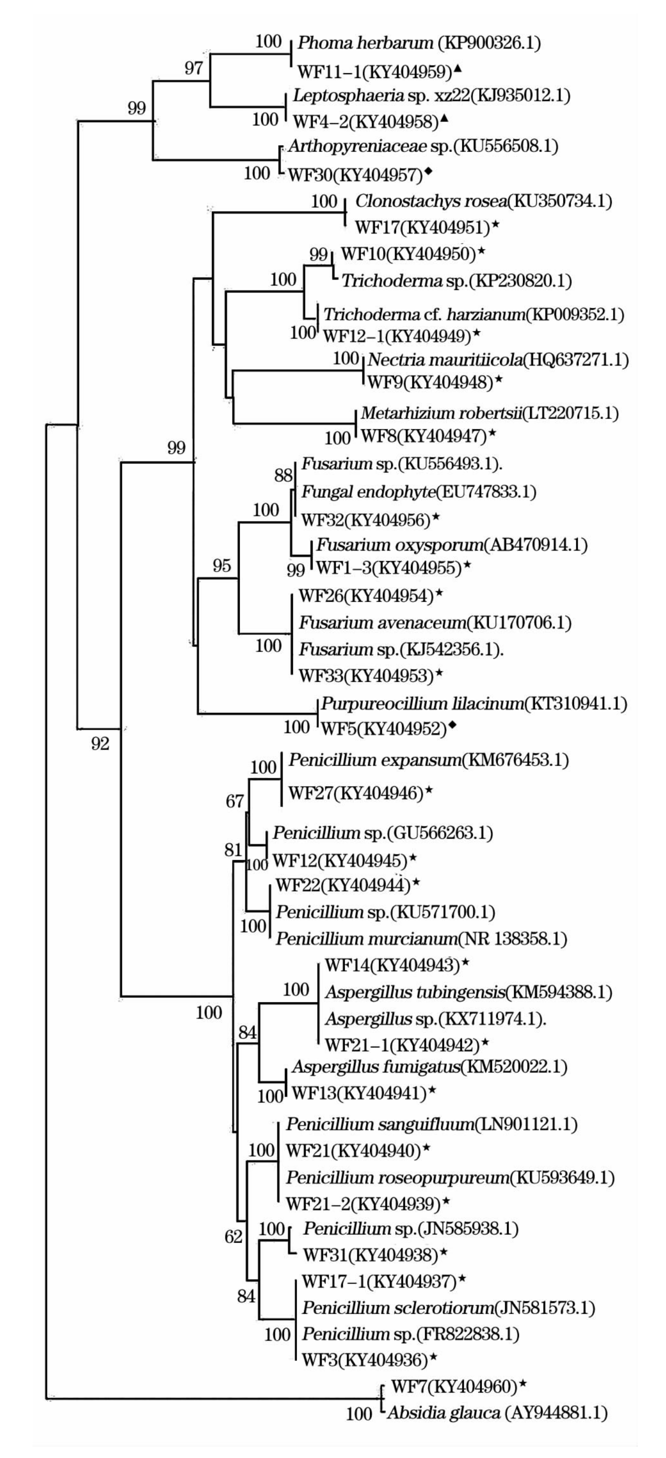
3.2 健康与患病果树覆盖区表土层真菌物种组成差异性比较

根据优势种类划分原则,某物种占群落总物种

表 1 分离菌株与参比菌株的 ITS 序列相似性

Tab. 1 Similarity of the sequences of ITS between fungal strains and reference strains

真菌属	分离菌株编号	登录号	参考物种(登录号)	序列相似性/%
青霉属	WF3	KY404936	*Penicillium* sp.(FR822838.1)	100
	WF17-1	KY404937	*Penicillium sclerotiorum* (JN581573.1)	100
	WF31	KY404938	*Penicillium* sp.(JN585938.1)	100
	WF21-2	KY404939	*Penicillium roseopurpureum* (KU593649.1)	100
	WF21	KY404940	*Penicillium sanguifluum* (LN901121.1)	100
	WF22	KY404944	*Penicillium murcianum* (NR138358.1)	100
	WF12	KY404945	*Penicillium* sp.(GU566263.1)	100
	WF27	KY404946	*Penicillium expansum* (KT316700.1)	100
木霉属	WF12-1	KY404949	*Trichoderma* cf. harzianum (KP009352.1)	100
	WF10	KY404950	*Trichoderma* sp.(KP230820.1)	100
绿僵菌属	WF8	KY404947	*Metarhizium robertsii*(LT220715.1)	99
镰刀菌属	WF33	KY404953	*Fusarium* sp.(KJ542356.1)	100
	WF26	KY404954	*Fusarium avenaceum*(KU170706.1)	100
	WF1-3	KY404955	*Fusarium oxysporum*(AB470914.1)	100
	WF32	KY404956	*Fusarium* sp.(KU556493.1)	99
曲霉属	WF13	KY404941	*Aspergillus fumigatus*(KM520022.1)	98
	WF21-1	KY404942	*Aspergillus* sp.(KX711974.1)	100
	WF14	KY404943	*Aspergillus tubingensis*(KM594388.1)	100
拟青霉属	WF5	KY404952	*Purpureocillium lilacinum* (KT310941.1)	100
丛赤壳属	WF9	KY404948	*Nectria mauritiicola*(HQ637271.1)	100
犁头霉属	WF7	KY404960	*Absidia glauca*(AY944881.1)	100
茎点霉属	WF11-1	KY404959	*Phoma herbarum*(KP900326.1)	100
小球腔属	WF4-2	KY404958	*Leptosphaeria* sp. xz22(KJ935012.1)	100
未知属	WF30	KY404957	*Arthopyreniaceae* sp.(KU556508.1)	100
聚孢霉属	WF17	KY404951	*Clonostachys rosea* (KU350734.1)	100



★ 表示 $H_{土}$ 和 $D_{土}$ 共有;◆ 表示 $H_{土}$ 特有;▲ 表示 $D_{土}$ 特有

图 1 基于 ITS 基因序列构建的分离菌株的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic dendrogram based on ITS gene sequences analysis

的百分比≥10% 为优势种,在 1% ~10% 为常见种,≤1% 为稀有种[17]。健康及患病果树覆盖区所分离到的可培养真菌共有属分别是 *Penicillium*、*Fusarium*、*Aspergillus*、*Absidia*、*Nectria*、*Trichoderma*、*Metarhizium* 及未知属 8 属(表 2)。健康果树覆盖区土壤中

表 2 健康及患病果树覆盖区表土层可培养真菌共有属、差异属比较

Tab. 2 Comparison of culture – dependent fungi between different coverage area of healthy and diseased trees

	共有属								差异属			
	青霉属	镰刀菌属	曲霉属	犁头霉属	丛赤壳属	木霉属	绿僵菌属	未知属	小球腔菌属	茎点霉属	聚孢霉属	拟青霉属
H	+ +	+	+	+	+	+	+	+			+	+
D	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+	+	+	+		

注:H 表示健康林覆盖区;D 表示患病林覆盖区;+ 表示存在;+ + 表示优势属。

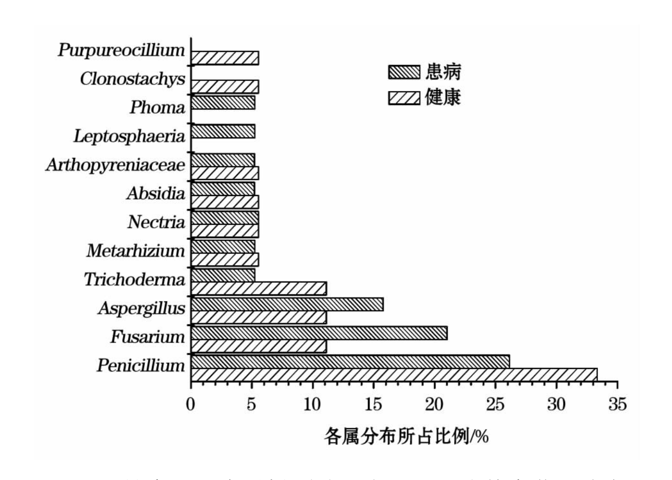


图 2 健康及患病果树覆盖区表土层可培养真菌属分布

Fig. 2 Culture – dependent fungal genus distribution in different coverage area of healthy and diseased trees

青霉属的菌株占分离菌株的 33.33%,是重要的优势属,而患病果树覆盖区土壤中优势属青霉属占 26.15%,镰刀菌属和曲霉属是仅次于青霉属的优势菌,分别占分离菌株的 21.02% 和 15.78%。比较分析发现聚孢霉属和拟青霉属仅存于 $H_{土}$ 中,分别占 5.56%,而茎点霉属和小球腔菌属仅存于 $D_{土}$ 中,各占 5.23%(图 2)。

3.3 可培养真菌多样性指数

新疆天山野果林健康果树覆盖区表层土壤可培养真菌 Shannon – Wiener 多样性指数为 2.10,患病果树覆盖区为 1.98。健康果树覆盖区表层土壤可培养真菌均匀度指数为 0.91,患病果树覆盖区为 0.79。由此可见,健康株覆盖区表层土壤真菌群落的多样性和均匀度指数均高于患病株覆盖区土壤,且多样性丰富,群落结构相对稳定。

4 讨 论

本研究从健康及患病果树根区土壤中所分离到的可培养真菌共有属分别是青霉属、镰刀菌属、曲霉属、犁头霉属、丛赤壳属、木霉属、绿僵菌属共 7 属,以及 1 株星核衣科真菌。其中,仅存在于健康果树覆盖区表层土壤真菌($H_{土}$)属拟青霉属和聚孢霉属,是重要的植物寄生线虫天敌真菌,部分类群对植物病原菌有拮抗效能,具生防作用。为解决寄生线虫给农林业带来的严重危害,目前越来越多的研究集中在食线虫真菌上,希望利用生物防治手段解决病害[18]。其中,淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)因其具有食线虫能力而被广泛研究[19],广泛存在于土壤中的兼性腐生菌聚孢霉属真菌 *Clonostachys rosea* 也被作为研究线虫发病机制的重要工具[20],Dong 等[21]从 C. rosea 中分离出的化学物质对秀丽杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)等几种线虫具有很大的杀线能力,也有研究发现该菌能够用于灰霉病的防治[22]。土壤中存在许多捕食性真菌,对土壤中的线虫和其他微生物都具有捕食作用[23],均可为生物防治研究提供丰富的菌株资源,而如果能够对野果林中功能真菌进一步挖掘,从而应用于野果林土壤病虫害研究等方面,将对野果林生态系统具有重要的意义。因此,笔者认为健康果树覆盖区土壤真菌多样性和均匀度指数均高于患病株覆盖区土壤,这在很大程度上与健康果树覆盖区真菌特有属组成有关,这些真菌的存在是否能够影响到土壤微生物微生态循环尚需深入研究,退化野果林土壤真菌的潜在生物学功能也值得进一步探索,在指导病虫害防治的同时,为生防菌属的挖掘提供资源。

本研究中,值得关注的是镰刀菌属真菌为健康和患病果树覆盖区表层土壤共有,但患病果树覆盖区表层土($D_{土}$)镰刀菌占比高达 21.02%,显著高于健康苹果属表层土镰刀菌比例。镰刀菌(*Fusarium*)大多数种为兼性寄生菌,是一类寄主广泛的重要强致病力的植物病原菌,如小麦赤霉病、棉花枯萎病、高粱穗霉病、向日葵枯萎病、香蕉镰刀菌枯萎病、杨树烂根病等均与之有关[24-26]。除此之外,仅存在于 $D_{土}$ 中的茎点霉属和小球腔菌属,也是重要的植物病原菌,可引起多种植物病害[27]。茎点霉属真菌的种类超过 2 000 种,其中大多为农作物和其他经济作物的重要病原菌,寄主范围广泛,引起植株叶斑、

叶枯、茎枯、褐斑、枯斑等症状,其中部分种还是检疫性植物病原菌,危害动物,甚至人类[28]。小球腔菌属真菌也是多种作物病害的病原,可引起麦冬叶部病害、油菜黑胫病、油菜茎基溃疡病等[29-30]。因此,笔者猜测患病果树覆盖区表层土壤中致病菌的存在,可能严重影响其土壤生态系统的健康程度,对苹果树产生危害,但这些致病菌是否引起苹果树发病以及如何发挥作用,还有待于进一步研究。

目前,对伊犁退化野果林土壤真菌的物种组成研究还比较薄弱,对该地区微生物多样性的认识也十分有限。本研究仅仅利用传统培养方法了解了健康林及患病林下表土层土壤真菌分布情况,为退化野果林微生物资源调查及保护提供基础理论依据。在今后的研究中还应借助分子生物学手段,更全面地认识退化野果林土壤真菌多样性,从而为野果林生态系统的物质循环及调控提供技术支持。

参考文献(References):

〔1〕 林培钧,崔乃然,皮里东.伊犁天山野果林是世界栽培落叶果树起源中心之一〔C〕//第十次全国李杏资源研究与利用学术研讨会论文集,2006:9-14.〔Lin Peijun, Cui Nairan, Pi Lidong. Yili Tianshan wild fruit forest is one of the Centers for the cultivation deciduous fruit trees in the world〔C〕//The Tenth National plumcot resources research and utilization of Academic Symposium, 2006:9-14.〕

〔2〕 刘刻心.野果林保护刻不容缓〔N〕.伊犁日报(汉),2006-05-16(002).〔Liu Kexin. The wild fruit forest protection is urgent〔N〕. Yili daily(Chinese),2006-05-16(002).〕

〔3〕 侯博,许正.天山野果林的发生、演变与气候因素的关系〔J〕.西北植物学报,2005,25(11):2 266-2 271.〔Hou Bo, Xu Zheng. Relationship of the occurences and evolutions of wild-fruit forests with climatic factors in the Tianshan Mountain〔J〕. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2005, 25(11):2 266-2 271.〕

〔4〕 Jenkinson D S. Microbial biomass in soil: Measurement and turnover〔J〕. Soil Biochemistry, 1981, 5:415-471.

〔5〕 金裕华.武夷山不同海拔土壤微生物多样性的变化特征〔D〕.南京:南京林业大学,2012.〔Jing Yuhua. Variation Characteristics of Soil Microbial Diversity at Different Altitudes in Wuyishan〔D〕. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2012.

〔6〕 Xue Dong, Yao H Y, Ge D Y, et al. Soil microbial community structure in diverse land use systems: a comparative study using Biolog, DGGE, and PLFA analyses〔J〕. Pedosphere, 2008, 18(5):653-663.

〔7〕 Vandenkoornhuyse P, Baldauf S L, Leyval C, et al. Extensive fungal diversity in plant roots〔J〕. Science, 2002, 295(5 562):2 051-2 051.

〔8〕 Štursová M, šnajdr J, Cajthaml T, et al. When the forest dies: the response of forest soil fungi to a bark beetle-induced tree dieback〔J〕. The ISME journal, 2014, 8(9):1 920-1 931.

〔9〕 Pec G J, Karst J, Taylor D L, et al. Change in soil fungal community structure driven by a decline in ectomycorrhizal fungi following a mountain pine beetle (Dendroctonus ponderosae) outbreak〔J〕. New Phytologist, 2017, 213(2):864-873.

〔10〕 崔大方,廖文波,羊海军,等.中国伊犁天山野果林区系表征地理成分及区系发生的研究〔J〕.林业科学研究,2006,19(5):555-560.〔Cui Dafang, Liao Wenbo, Yang Haijun. Studies on the floristic composition and genesis of the Tianshan Mountains in China〔J〕. Forest Research, 2006, 19(5):555-560.〕

〔11〕 秦伟,沙红,刘立强,等.新疆野苹果资源遗传多样性SSR分析〔J〕.果树学报,2012,29(2):161-165.〔Qin Wei, Sha Hong, Liu Liqiang, et al. SSR analysis for genetic diversity of *Malus sieversii* from Xinjiang, China〔J〕. Journal of Fruit Science, 2012, 29(2):161-165.〕

〔12〕 马闯,杨美玲,张云秀,等.新疆野苹果(*Malus sieversii*)种群年龄结构及其动态特征〔J〕.干旱区研究,2018,(35)1:156-164.〔Ma Chuang, Yang Meiling, Zhang Yunxiu, et al. Age Composition and Dynamic Characteristics of the Main Populations of Endangered *Malus sieversii*〔J〕. Arid Zone Research, 2018, (35)1:156-164.〕

〔13〕 李宇秀,张宏祥.死亡植株对新疆野苹果种群遗传多样性的影响〔J〕.干旱区研究,2018,(35)1:165-170.〔Li Yuxiu, Zhang Hongxiang. Effect of death individual on the genetic diversity of *Malus sieversii* population〔J〕. Arid Zone Research, 2018, (35)1:165-170.〕

〔14〕 孙立夫,张艳华,裴克全.一种高效提取真菌总DNA的方法〔J〕.菌物学报,2009,28(2):299-302.〔Sun Lifu, Zhang Yanhua, PeiKequan. A rapid extraction of genomic DNA from fungi〔J〕. Mycosystema, 2009, 28(2):299-302.〕

〔15〕 Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0〔J〕. bioinformatics, 2007, 23(21):2 947-2 948.

〔16〕 刘敏,李潞滨,杨凯,等.冷箭竹根际土壤中可培养细菌的多样〔J〕.生物多样性,2008,16(1):91-95.〔Liu Min, Li Lubing, Yang Kai, et al. Culturable bacteria diversity in rhizosphere of *Bashania fangiana*〔J〕. Biodiversity Science, 2008, 16(1):91-95.〕

〔17〕 庞雄飞,尤民生.昆虫群落生态学〔M〕.北京:中国农业出版社,1996:77-103.〔Pang Xiongfei, You Minsheng. Insect Community Ecology〔M〕. China Agricultural Press, Beijing: 1996:77-103.〕

〔18〕 Siddiqui Z A, Mahmood I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review〔J〕. Bioresource Technology, 1996, 58(3):229-239.

〔19〕 Fiedler Ż, Sosnowska D. Nematophagous fungus Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson is also a biological agent for control of greenhouse insects and mite pests〔J〕. Biological Control, 2007, 52(4):547-558.

〔20〕 Zhang L, Yang J K, Niu Q H, et al. Investigation on the infection mechanism of the fungus Clonostachys rosea against nematodes using the green fluorescent protein〔J〕. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 78(6):983-990.

〔21〕 Dong J Y,Zhao Z X,Cai L,et al. Nematicidal effect of freshwater fungal cultures against the pine – wood nematode,bursaphelenchus xylophilus〔J〕. Fungal Diversity,2004,15(4):125 – 135.

〔22〕 Maffia L A,Mizubuti E,Alfenas A C,et al. Suppression of botrytis cinerea sporulation by clonostachys rosea on rose debris:A valuable component in botrytis blight management in commercial greenhouses〔J〕. Biological Control,2003,26(3):311 – 317.

〔23〕 徐文凤. 环渤海湾地区重茬苹果园土壤真菌群落多样性及生防真菌的筛选〔D〕. 山东:山东农业大学,2011.〔Xu Wenfeng. Diversity Analysis of Soil Fungi From Bohai Bay Apple Replanted Orchard and the Screening of the Antagonistic Fungi〔D〕. Shandong :Shandong Agricultural University,2011.〕

〔24〕 魏岳荣,黄秉智,杨护,等. 香蕉镰刀菌枯萎病研究进展〔J〕. 果树学报,2005,22(2):154 – 159.〔Wei Yuerong,Huang Binzhi,Yang Hu,et al. Advances in research of fusarium wilt disease of banana〔J〕. Journal of Fruit Science,2005,22(2):154 – 159.〕

〔25〕 史建荣,仇剑波,董飞,等. 小麦镰刀菌毒素及其发生风险研究进展〔J〕. 麦类作物学报,2016,36(2):129 – 135.〔Shi Jianrong,Qiu Jianbo,Dong Fei,et al. Risks of fusarium toxins of wheat in China〔J〕. Journal of Triticeae Crops,2016,36(2):129 – 135.〕

〔26〕 高婧,张园园,王凯,等. 向日葵枯萎病菌的分离鉴定及其生物学特性〔J〕. 中国油料作物学报,2016,38(2):214 – 222.〔Gao Jing,Zhang Yuanyuan,Wang Kai,et al. Identification of sunflower wilt pathogen and its biological characteristics〔J〕. Chinese Journal of Oil Crop Sciences,2016,38(2):214 – 222.〕

〔27〕 杨文,陈瑶,陈小均,等. 茎点霉真菌 *Phoma adianticola* 引起的一种茶树新病害〔J〕. 茶叶科学,2016,36(1):59 – 67.〔Yang Wen,Chen Yao,Chen Xiaojun,et al. A new disease of tea plant caused by *Phoma adianticola*〔J〕. Journal of Tea Science,2016,36(1):59 – 67.〕

〔28〕 杨玲玉,王颖,程颖慧,等. 茎点霉生物学特性研究〔J〕. 山东农业大学学报(自然科学版),2016,47(4):501 – 505.〔Yang Lingyu,Wang Ying,Cheng Yinhui,et al. Study on biological characteristics of *phoma* spp.〔J〕. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition),2016,47(4):501 – 505.〕

〔29〕 Williams R H,Fitt B D L. Differentiating A and B groups of *Leptosphaeria maculans*,causal agent of stem canker (blackleg) of oilseed rape〔J〕. Plant Pathology,1999,48(2):161 – 175.

〔30〕 苗晓敏. 油菜黑胫病原菌 *Leptosphaeria biglobosa* 生物学特性的研究〔D〕. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2014.〔Miao Xiaoming. Study on Biological Characteristics of *Leptosphaeria biglobosa* in Oilseed Rape〔D〕. Hohhot:Inner Mongolia Agricultural University,2014.〕

Studies on the topsoil culture – dependent fungal diversity of the degraded wild apple forests in Yili

CHEN Jie – zuo1,2,WU Nan1,ZAHNG Bin – chang1,RONG Xiao – ying1,
HU Wen – ge3,ZHANG Yuan – ming1

(1. *Key Laboratory of Biogeography and Bioresource in Arid land*,*Xinjiang Institute of Ecology and Geography*,*Chinese Academy of Sciences*,*Xinjiang China*,830011;
2. *State Key Laboratory of Mycology*,*Institute of Microbiology*,*Chinese Academy of Sciences*,*Beijing China*,100101;
3. *Shihezi university*,*College of life science*, *Shihezi China*, 832000)

Abstract: Xinjiang Tianshan wild fruit forest is one of the area of origin of cultivated deciduous fruit trees in the world, which have the largest area and the most primitive dense is relatively rare in Eurasia, In recent years, due to human large – scale development of the wild fruit forest,causing serious damage to the wild fruit forest ecosystems, not only the fruit trees were seriously damaged, but the species diversity was decreased. Current research on wild fruit ecological system mainly concentrated on the ground, the change of groundwater microbial little attention. The objective of this study was to evaluate the diversity of culturable fungi isolated from the topsoil of health fruit trees (H soil) and diseased fruit trees (D soil) in the degraded wild fruit forest. Dilution plate technique and 18s rDNA sequence analysis were applied to obain the sequences of 25 difference colonies isolated from the degraded wild fruit forest, which were subsequently submitted to GenBank and compared with those known sequences to build up the phylogenetic tree. Results revealed that :(1) These strains were clustered into 3 phyla, 6 classes, 8 orders, 11 families, 11genera; (2) The dominant genera of the H soil was Penicillium, while Penicillium and Fusarium were majority of the D soil, the endemic genera of H soil were Clonostachys and Purpureocillium, but Pho-

ma and Leptosphaeria only existed in the D soil; (3) The Shannon – Wiener diversity index of H soil was 2.10, greater than the D soil (1.98), the evenness index of the H soil was 0.91, higher than D soil (0.79). The biological characteristics of these culture – dependent fungi isolated from the wild fruit forest need to be further study, so as to better applied to wild apple forest soil pest control.

Key words: degraded wild fruit forests; upper – soil; culturable fungi; diversity.